

## 人关节韧带成纤维细胞

Cat NO.: CP-H368

## 一、产品简介

1. 产品名称：人关节韧带成纤维细胞
2. 组织来源：关节韧带
3. 细胞简介：

人关节韧带成纤维细胞分离自关节韧带组织；韧带是纤维结缔组织，将各个骨头在关节处连接起来，并在关节活动时加固关节稳定关节。其中颞下颌关节、踝关节、膝关节韧带组织研究较多，颞下颌关节两侧各有三条，即颞下颌韧带、茎突下颌韧带和蝶下颌韧带。踝关节周围韧带根据其解剖位置可以分成3组，外侧韧带，内侧三角韧带，胫腓联合韧带。膝关节的韧带有囊外韧带和囊内韧带，其共同作用为加强关节的稳定性。囊外韧带主要有：髌韧带位于髌骨的下部，关节囊的前方，是股四头肌肌腱的延续，向下附着于胫骨粗隆，两侧有侧副韧带加强；囊内韧带：主要为交叉韧带：前交叉韧带附着于胫骨髁间隆起前份和股骨外侧髁的内侧面，防止胫骨过度前移；后交叉韧带附着于胫骨髁间隆起后份与股骨内侧髁的外侧面，防止胫骨过度后移。另外，在膝关节内尚有膝横韧带。任何关节韧带均可由于外伤而发生损伤，但影响较大又较常见的是膝关节韧带损伤和踝关节韧带损伤。膝关节韧带损伤，常见者为膝关节侧副韧带损伤。多因膝关节微屈时，突然受到内翻或外翻的冲击力所致。踝关节韧带损伤。多因行走或跑跳时误入不平之处所致。以外侧损伤多见。韧带是致密纤维结缔组织，主要特点是细胞、基质成分少，纤维非常多、纤维粗大排列紧密，且排列方向与承受张力的方向一致，有很强的保护和支撑作用。韧带主要包含韧带成纤维细胞。人关节韧带成纤维细胞对研究关节韧带损伤有重要意义。

## 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的人关节韧带成纤维细胞采用胰蛋白酶-胶原酶混合消化法结合差速贴壁法制备而来，细胞总量约为 $5 \times 10^5$  cells/瓶。

## 5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的人关节韧带成纤维细胞经Vimentin免疫荧光鉴定，纯度可达90%以上，且不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

## 6. 培养信息：

培养基	基础培养基，含FBS、bFGF、Insulin、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-H368
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	成纤维细胞样
传代特性	可传3代左右
传代比例	1:2



消化液 0.25%胰蛋白酶  
培养条件 气相：空气，95%；CO<sub>2</sub>，5%

人关节韧带成纤维细胞体外培养周期有限；建议使用普诺赛配套的专用生长培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。

## 二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 三、使用方法

人关节韧带成纤维细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈成纤维细胞样，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞可传3代左右；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

客户收到细胞后，请按照以下方法进行操作。

1. 取出T25细胞培养瓶，用75%酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置3-4h，以稳定细胞状态。
2. 贴壁细胞消化
  - 1) 吸出T25细胞培养瓶中的培养基，用PBS清洗细胞一次；
  - 2) 添加0.25%胰蛋白酶消化液1mL至T25培养瓶中，轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后，吸出多余胰蛋白酶消化液，37℃温浴1-3min；倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5mL完全培养基终止消化；
  - 3) 用吸管轻轻吹打混匀，按传代比例接种T25培养瓶传代，然后补充新鲜的完全培养基至5mL，置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养；
  - 4) 待细胞完全贴壁后，培养观察，用于实验；之后再按照换液频率更换新鲜的完全培养基。
3. 复苏操作说明
  1. 准备好37度水浴锅，预热至37度；
  2. 准备好T25培养瓶，加入10ml完全培养基（培养基量必须大于冻存液10倍体积）；
  3. 取出干冰内冻存细胞管，用EP手套包裹冻存管（防止管内进水导致污染），迅速放于水浴锅内，于1min内融化完全；
  4. 取出冻存管，酒精喷洒消毒后擦干，置于超净台内；
  5. 吸取冻存管内细胞悬液，加入步骤2中准备好的T25培养瓶内，8字缓慢摇匀；
  6. 培养瓶放于37度CO<sub>2</sub>恒温培养箱内，静置培养24h，更换新鲜换培养基（注意贴壁细胞、悬浮细胞不同换液操作方法）。

## 4. 细胞实验

因原代细胞贴壁特殊性，贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿（如玻璃爬片、培



养板、共聚焦培养皿等)时,需要对实验器皿进行包被,以增强细胞贴壁性,避免细胞因没贴好影响实验;包被条件常选用鼠尾胶原(2-5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ),多聚赖氨酸PLL(0.1mg/ml),明胶(0.1%),依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

#### 四、注意事项

1. 培养基于4℃条件下可保存3个月。
2. 在细胞培养过程中,请注意保持无菌操作。
3. 消化过程中,胰酶消化时间不宜过长,否则会影响细胞贴壁及其生长状态。
4. 建议客户收到细胞后前3天每个倍数各拍几张细胞照片,记录细胞状态,便于和普诺赛技术部沟通;由于运输的原因,个别敏感细胞会出现不稳定的情况,请及时和我们联系,详尽告知细胞的具体情况,以便我们的技术人员跟踪、回访直至问题得到解决。
5. 该细胞只可用于科研。

备注:由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同,以上方法仅供各实验室参考

